

イソアワモチ背眼のレンズ細胞の  
レンズ構築と光受容能

片桐展子・藤本克己\*・片桐康雄\*\*

〒162 新宿区東京女子医科大学第二解剖学教室  
\*〒101 千代田区専修大学法学部  
\*\*〒162 新宿区東京女子医科大学第一生理学教室

1983年2月14日 受領

Cellular Composition and Photoresponse of the Lens in the *Onchidium* Dorsal Eye. NOBUKO KATAGIRI, KATSUMI FUJIMOTO\* AND YASUO KATAGIRI\*\* (Department of Anatomy and \*\*Department of Physiology, Tokyo Women's Medical College, Shinjuku-ku 162, \*Senshu University, School of Law, Chiyoda-ku 102)

**ABSTRACT** Cellular composition of the lens of the dorsal eye in *Onchidium verruculatum* (Opisthobranch, Gastropoda) was investigated by light microscope and the photoresponsiveness of the lens cells and their identities were examined by means of a fluorescent dye microelectrode technique. A pear-shaped lens located in the center of the dorsal eye was composed of several lens cells and ensheathed entirely with connective tissue. Number, shape, size and arrangement of constituent cells were considerably varied in individual lenses. In most lenses, an upper principal part and a lower accessory part could be distinguished, each of which was composed of a group of lens cells and surrounded by glia-like cells. The principal part with a flat bottom contained 1-8 cells and occupied more than half of the lens, beneath which the accessory part containing 0-9 cells adjoined and formed the spherical bottom of the whole lens. The size of the lens was almost linearly related to that of the dorsal eye itself, and it was noted that the larger the lens, the more complex the cell composition. In 63% of the lenses, the principal part was formed by a single large lens cell. Occasionally, free lens cells occurred outside the lens proper. All the lens cells, independent of their location, were provided with rhabdomeric microvilli and responded to light with a characteristic pattern of slow depolarization. It was suggested that lens cells in the *Onchidium* dorsal eye play double roles, that of a photoreceptor individually and of a dioptric apparatus *en masse*. (*Zool. Mag.* 92: 199-206, 1983)

無脊椎動物の眼のレンズには多種多様な形態が報告され、それらについて Eakin (1972) と Salvini-Plawen and Mayr (1977) の綜説がある。レンズは細胞またはその一部から構成される“細胞性レンズ”と分泌物などによって形成される“非細胞性レンズ”とに大別され、イソアワモチ *Onchidium verruculatum* の背眼レンズは前者に、柄眼レンズは後者に属する (Katagiri, 1981)。この動物の背眼レンズを構成するレンズ細胞は感杆様微絨毛をもち、光刺激に対して感杆型光受容細胞様の脱分極性応答を発生するなど、多くの点で他の動物の細胞性レンズには見られない特異な所見を示す (片桐 (展) ら, 1981; 片桐 (康) ら, 1981; 片桐, 1981;

Yanase *et al.*, 1981)。一方、イソアワモチの柄眼を含む他の多くの軟体動物の視細胞は感杆型であり (Eakin, 1968; 片桐, 1980)、それに対して背眼の視細胞は繊毛型である (梁瀬・阪本 1965; Katagiri, 1979)。従ってイソアワモチの背眼は光受容細胞の形態的進化に関する Eakin の仮説 (1972, 1982) の単なる例外の一つであるばかりではなく、同一の眼の中に、網膜にある繊毛型とレンズにある感杆型の二種の光受容細胞を有する特異な眼と言える。

イソアワモチの担眼突起の分布や担眼突起上の背眼の数は個体および突起ごとに異なり (Hirasaka, 1922)、背眼レンズの細胞構成も個々の背眼で異なっている。レンズは上部と下部から成りそれぞれを

構成するレンズ細胞の数は様々で、上部の構成をみると1個 (Semper, 1877; Stantschinsky, 1908; 平坂, 1912), 3個および8個 (Stantschinsky, 1908)の細胞から成るレンズが知られている。他の種の背眼レンズには単一細胞のみから成るもの (*O. buetschlii*, *O. fungiforme*, *O. peroni*; Stantschinsky, 1908)と、上部(1個)と下部から成るもの (*O. peroni*; Stantschinsky, 1908; *O. Dämelli*; Lendenfeld, 1885)が報告されている。しかし、これらの報告はごく少数例について観察したもので、背眼レンズの多様な細胞構成を解析するには不十分であった。

本研究では76例の背眼の連続切片をほぼ完全に復構し、レンズの正確な細胞構成を調べた。また、レンズ細胞から光応答を確認後、蛍光色素を注入してその細胞を標識し、レンズ内に占める位置を明らかにした。それらの結果からレンズ細胞のもつ“レンズ”と“光受容”の機能について考察した。

#### 材料および方法

イソアワモチ *Onchidium verruculatum* (軟体動物・腹足綱・後鰓亜綱)は房総半島の海岸において採集、実験室内の濾過装置付水槽で人工海水中に飼育した体長40~60 mmのものを用いた。担眼突起を切りとり2%四酸化オスミウム(0.2Mリン酸緩衝液 pH 7.6, Millonig, 1962)で2時間固定し、エタノール脱水後エポキシ樹脂 (Luft, 1961)に包埋した。1~3  $\mu\text{m}$ の連続切片を0.5%トルイジン青液(1/15 Mリン酸緩衝液 pH 7.4)で染色した。投影顕微鏡の投影像をトレーシングペーパーに描画し、連続切片の所見の立体復構を行なった。

光応答の記録にはレンズ細胞への電極の刺入を容易にするため、切りとった担眼突起を0.1%プロナーゼ液(人工海水稀釈 pH 7.8)に10~20分間浸してクチクラを剥離した。6%プロシオン黄水溶液または5%ルシファー黄・塩化リチウム液を充たした微小電極を用い光応答を確認後、10nA, 10分間の負方向の直流通電を行なって細胞内に色素を注入した。試料を30分間静置後、Karnovsky (1965)の固定液で4°C, 一昼夜固定し、エタノール脱水後Spurr (1969)のエポキシ樹脂に包埋した。1~3  $\mu\text{m}$ の連続切片を作成し、蛍光顕微鏡で写真撮影を行なった。さらに、その切片シリーズをトルイジン青液で

染色し、上記の方法によって立体復構を行なった。光応答の記録に際し圧迫により著しく変形した背眼についてはレンズの細胞構築のみを調べ、大きさの計測から除外した。実験は全て21~23°Cの室温中で行なった。

#### 結 果

##### 1. レンズの細胞構成

背眼を備える担眼突起は外套背面に広く分布し、その数や位置には個体差がみられた。背眼は1個の担眼突起上に1~19個、多くは2~4個存在し、その直径は95~240  $\mu\text{m}$  (平均176.6  $\mu\text{m}$ , n=51)であった。レンズは透明で洋梨形(長径65~190  $\mu\text{m}$ , 平均123.0  $\mu\text{m}$ , n=51)を呈し、眼球の中央部にあり眼盂内腔の大部分を占めていた。レンズと背眼の直径はほぼ比例した(相関係数  $r=0.84$ , Fig. 1)。レンズ細胞の形、大きさ、レンズ内の配列、レンズを構成する細胞の数(1~14個)などは個々の背眼ごとに異なっていた。

多くのレンズは入射光側の上部と網膜側の下部の二部分から構成されていた。著者らは前者を主部、後者を副部と呼ぶことにした。主部および副部はそれぞれ支持細胞によって覆われ互いに隔てられていたが、レンズ全体は結合組織によってとり巻かれて

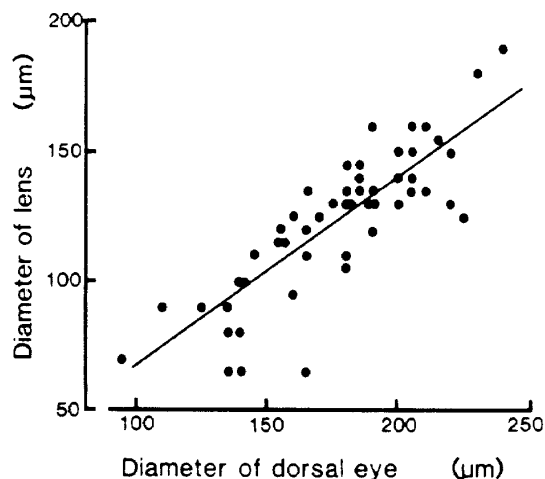


Fig. 1. Relationship between diameters of the dorsal eye and its lens.

Coefficient of correlation is 0.84 (n=51). The straight line was determined by linear regression analysis ( $Y=A+BX$ ,  $A=-9.57$ ,  $B=0.75$ ).

いた。主部は副部より大きく、レンズの半分以上を占め、その基底面は平面であった。副部は主部の基底面に接し半球状を呈した (Figs. 4; 5 a, b)。レンズ細胞の入射光側にはトルイジン青に特に濃染する微絨毛の密集した感杆様の構造があり片桐 (展ら, 1981)、主部の縦断面では垂鈴形、副部では半月形を示した (Fig. 5 a, e のM)。また、レンズを構成する細胞と同じ形態的特徴をもつ細胞 (遊離レンズ細胞) がレンズ本体とは別に、レンズと網膜の間、網膜視細胞間、視神経乳頭部などに孤立して存在することがあった。遊離レンズ細胞は、主部および副部の細胞より小形のもが多く、その感杆様構造の位置は光の入射方向と特別の関係を示さなかった (Figs. 4; 5 a, b)。

レンズの細胞構成を主部と副部に含まれる細胞の数によって表わし、主部の細胞数を基準にして表 1 に示した。76例の背眼レンズの細胞構成は主部と副部から成るレンズ76%と、主部のみから成るもの24%に大別され、後者においては単一細胞から成るレンズが最も多かった (9%)。主部を構成するレンズ細胞の数は1~8個、副部では0~9個であり、これらの様々な組み合わせによる28型のレンズが識別された。最も単純なレンズは第1型 (Fig. 5e) で、複雑な構成のものは第9型や第25型にみられた。

レンズの大きさと構成細胞数はほぼ比例し、大形の

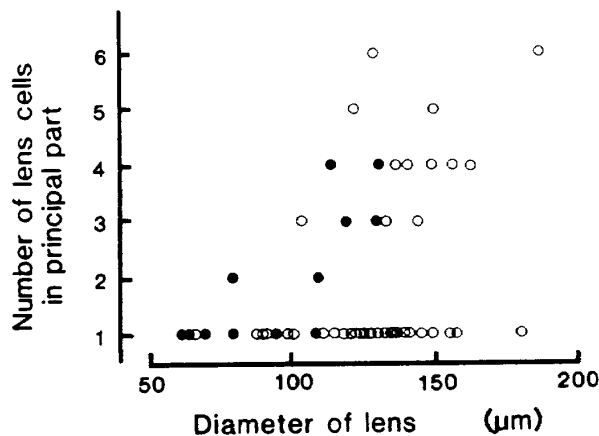


Fig. 2. Relationship between diameter of the lens and number of lens cells in the principal part.

Lenses consisting of the principal and the accessory parts (open circle) are larger in size than those lacking the accessory part (solid circle).

レンズは構成細胞数が多く複雑な構築を示した。主部の細胞数の多いレンズより大きく、また主部のみから成るレンズ (Fig. 2 の黒丸印) に比べて主・副二部からなるレンズ (Fig. 2 の白丸印) の方がより大

Table 1. Lenses of the *Onchidium dorsal* eye are classified into 28 types according to the number of lens cells in the principal and accessory parts of the lens. 76% of lenses consist of both the principal and accessory parts, and 24% lack the latter. Free lens cells are found outside the lens proper. The lens cells injected with fluorescent dye after recording of the response to light are marked by asterisks (\*).

Type	No. of lens cells			No. of D.E.
	Principal	Accessory	Free	
1	1*	0	0-1	7
2	1	1	0-3	6
3	1*	2*	0-2	11
4	1	3*	0-2	9
5	1	4	0-2	9
6	1	5	2-3	2
7	1	6	3	1
8	1	7	0-7	2
9	1	8*	0	1
10	2	0	0-2	2
11	2	3	0	1
12	3	0	0-1	3
13	3*	2	0	2
14	3	3	1	2
15	4*	0	0-1	3
16	4	1	4	1
17	4	2	0	1
18	4	3	0	1
19	4	4	1	1
20	4	5*	0-2	2
21	4	6	2	1
22	5*	3	0	1
23	5	9	3	1
24	6	1	2	1
25	6	4	1	1
26	6	5	0	1
27	7	0	2-5	2
28	8	0	0	1
Total				76

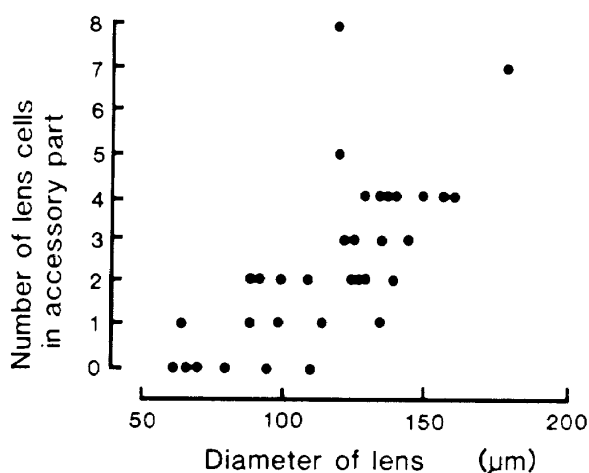


Fig. 3. Relationship between diameter of the lens and number of cells in the accessory part. Principal part is formed by a single cell.

きい傾向が見られた。主部に唯一の細胞を有するレンズでは副部の細胞数の多いものほど大きかった (Fig. 3)。一般に主部の細胞は副部のものより大きく、特に主部に1個の細胞をもつレンズではその細胞のみでレンズの半分以上を占めた (Figs. 4; 5 a, b)。1個の担眼突起上に異例に多数 (19個, 表1には含まれていない) の背眼が存在した例について各々のレンズの細胞構成を見ると第1型 10例, 第2型 4例, 第3型 2例でレンズが欠落したもの3

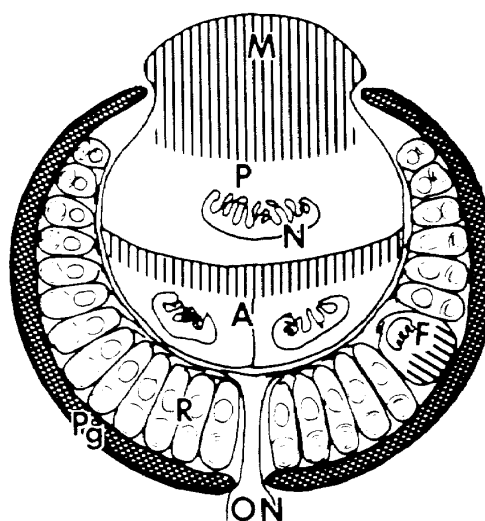


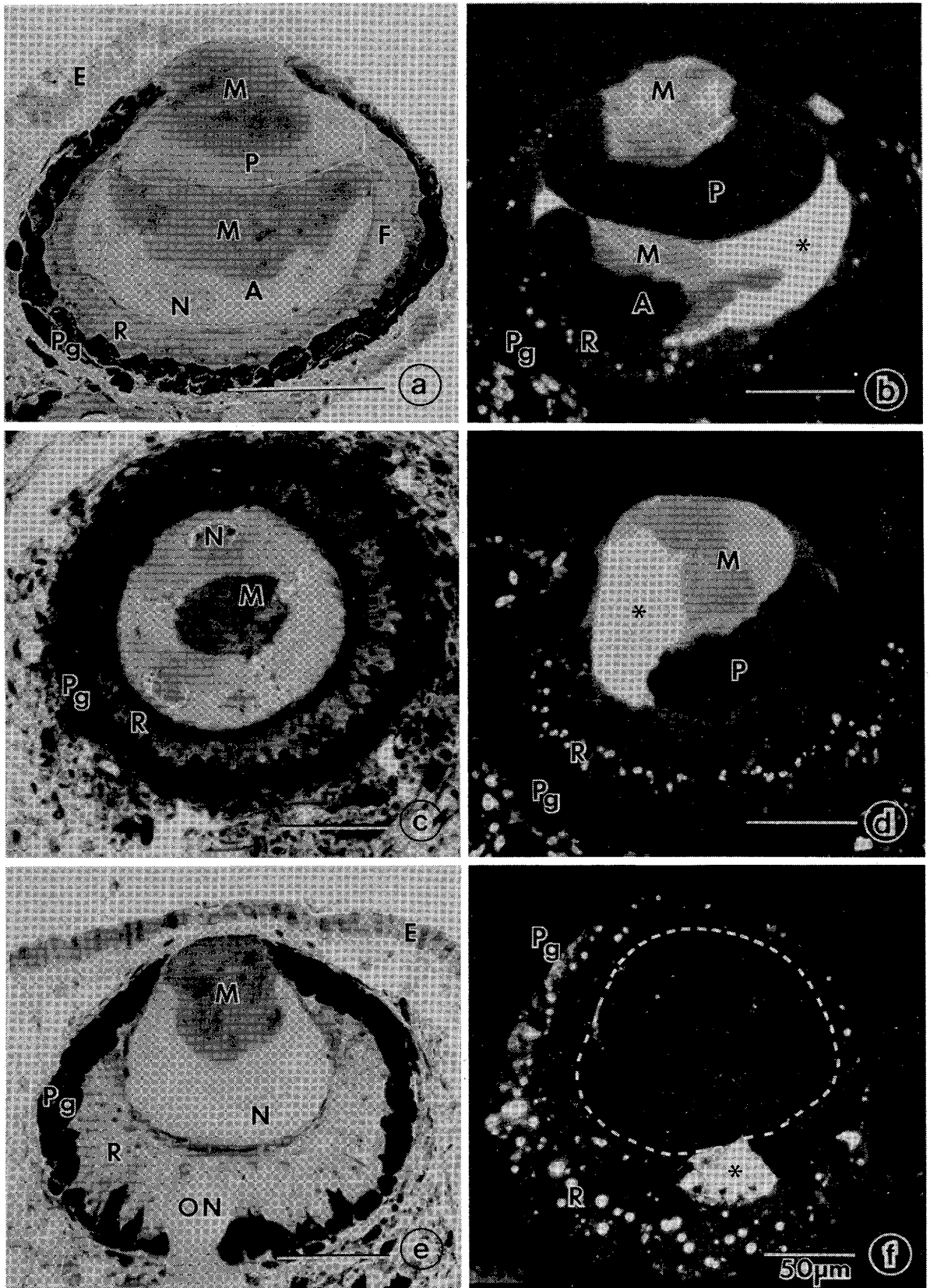
Fig. 4. Diagram of a typical lens in an *Onchidium* dorsal eye. A, accessory part; F, free lens cell; M, microvilli of lens cell; N, nucleus of lens cell; ON, optic nerve; P, principal part; Pg, pigmented layer; R, receptor cell layer.

例を除き、全て主部に1個の細胞をもつレンズであった。主部に1個の細胞をもつレンズは調査例中最も多く (63%)、その中でも主部1個と副部2~4個の細胞から成るレンズ (第3~5型) を背眼の代表的なレンズとみなすことができた (Figs. 4; 5 a,

Fig. 5.

- Micrograph of a vertical section of an *Onchidium* dorsal eye. The lens (type 5 in Table 1) is composed of a single cell in the principal part and of four cells in the accessory part. The upper portion (M) of the lens cell is more intensely stained with toluidine blue.
- Fluorescent-micrograph of a dorsal eye. One (\*) of three cells in the accessory part (type 4 in Table 1) shows intense fluorescence of the dye injected after recording. Microvilli (upper portion) of lens cells and inclusions in receptor cells show weak autofluorescence.
- Micrograph of a transverse section through the upper part of a dorsal eye. Three cells in the principal part (type 12 in Table 1) are arranged radially. Microvilli (M) of these cells are adjoined to each other at the center of the lens.
- Fluorescent-micrograph of a dorsal eye. One (\*) of five lens cells in the principal part was impaled (type 22 in Table 1).
- Micrograph of a vertical section of a lens formed by a single cell (type 1 in Table 1).
- Fluorescent-micrograph of a free lens cell (\*) injected with dye. A spherical lens (type 6 in Table 1) is situated in the center of the eye, which is outlined by a broken line.

A, accessory part; E, epidermis; F, free lens cell; M, microvilli of a lens cell; N, nucleus of a lens cell; ON, optic nerve; P, principal part; Pg, pigmented layer; R, receptor cell layer.



b)。

遊離レンズ細胞は多くの背眼のレンズ周辺に見られ、レンズの細胞構成が複雑なものほど遊離レンズ細胞の数が多傾向があった。

レンズの基部から視神経束に向かう軸索様の突起がしばしば見られた。しかし、視神経束として背眼を出て中枢に向かうか否かは確認できなかった。

## 2. レンズ細胞の光応答

レンズ細胞は光照射により脱分極性電位を発生した。暗時における静止電位は $-40\sim-70\text{mV}$ で最強光刺激に対する光応答はおおよそ $200\text{msec}$ の長い潜時の後発生し極大は零電位に達した。最大波長感度は $440\sim460\text{nm}$ であった。これらの所見は従来の報告に一致した(片桐(康)ら1981, Yanase *et al.* 1981)。この応答は単離したレンズ細胞からも記録でき、レンズ細胞自体が受容器電位を発生することを示した。背眼レンズの主部および副部の細胞と遊離レンズ細胞のいずれからも上記の特徴をもつ光応答が得られ、主部の細胞(第22型レンズ, Fig. 5d), 副部の細胞(第4型レンズ, Fig. 5b), 遊離レンズ細胞(第6型レンズの外, Fig. 5f)がそれぞれ蛍光色素によって明瞭に識別された。Fig. 5bのレンズ細胞から得られた光応答を Fig. 6 に示した。

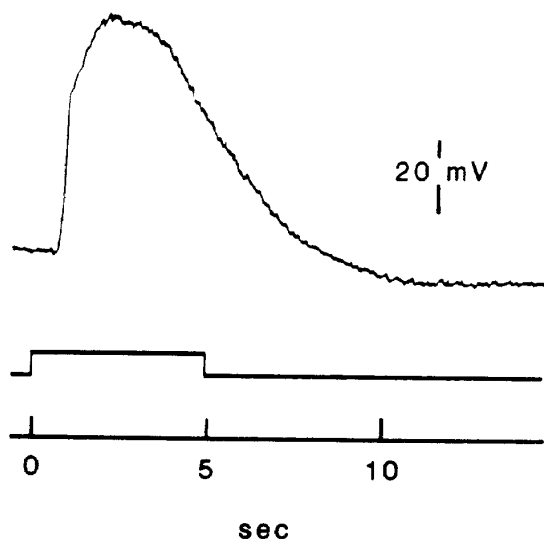


Fig. 6. Intracellularly recorded response to light from the cell shown in Fig. 5d. Middle trace indicates the light signal.

## 考 察

イソアワモチの背眼のレンズはレンズ細胞の変化に富む形状、配列などを反映して多様な細胞構成を示した。著者らは76例の背眼において、レンズを構成する主部および副部に含まれるレンズ細胞の数を基準にして28のレンズの構成型を識別した。他の研究者によって報告された背眼レンズの細胞構成は1例を除きこの28型のいずれかに該当するものとみなされる(Semper, 1877; Lendenfeld, 1885; Stantchinsky, 1908; 平坂, 1912)。

平坂(1912)はレンズの上部にある1個の大きな細胞を主レンズ細胞、下部にあるものを副レンズ細胞と呼んだ。主レンズ細胞は端部と基部より成り、端部は球形で特別の構造を示し副レンズ細胞にはみられないと記載している。平坂の主レンズ細胞にみられた特別な構造は密集した微絨毛より成る感杆様の構造であり、主部のレンズ細胞に限らず全てのレンズ細胞にみられた。また、その他の微細構造も遊離レンズ細胞を含め、レンズ細胞の背眼内における位置による差異は殆んど認められない(片桐(展)ら, 1981)。本研究により、レンズの上部を構成する細胞は必ずしも1個とは限らず複数個のものがあること、副部(平坂(1912)の副レンズ細胞)を欠くレンズがあること、レンズ外に遊離レンズ細胞が存在することが明らかになった。また、主部と副部の細胞および遊離レンズ細胞から、応答振幅、経過時間ともにほぼ等しい脱分極性光応答が得られ、レンズ細胞は光応答に関してもその存在部位による差異がないことが確認された。従って、著者らは背眼レンズの細胞構成の記載にあたり、上部を主部、下部を副部、レンズ外にある細胞を遊離レンズ細胞とする用語が適当と考え使用した。

背眼レンズの細胞構成が多様である理由を解明するには背眼の形成過程を調べる必要がある。しかし、イソアワモチは背眼が形成される以前にベリジャー幼生として孵化し遊泳するのでその発生をみるのが難しい。同種に近縁の *Onchidium sp.*<sup>1)</sup> は成体に近い形態で孵化し葡萄生活をするので、その後の背眼の形成過程を観察できる。この種の背眼の形態はイソアワモチとほぼ同じであるが、レンズは主部に1個の細胞をもつものが殆んどである。背眼は孵化

後2週間位で幼体の背表中央部に初めて形成され、成長に伴って背表に広く出現するようになる。その後、それらの背眼は次第に大きくなり成体の背眼になると推定される。背眼のレンズは色素細胞層に囲まれた未分化の細胞塊から視細胞より先に分化し単一の細胞から成る(片桐ら, 未発表)。これより類推して、イソアワモチにおいても背眼の形成初期にレンズ細胞が1個分化したものは主部に1個の細胞をもつレンズに、2個以上が同時か短期間に分化したものは主部に複数個の細胞をもつレンズになり、さらに背眼の成長に伴い未分化の細胞からレンズ細胞が分化してレンズ下部に加わることによって主部と副部から成るレンズになると推測される。副部の細胞と遊離レンズ細胞の区別はレンズ本体の形成とこれらの細胞の分化との時間的ズレによって生ずると思われる。Hirasaka (1922) や Stantchinsky (1908) も背眼の発生について考察したがレンズの細胞構成については触れていない。

著者らは形態学および電気生理学的研究により、レンズ細胞の光受容能を明らかにした(片桐(展)ら, 1981; 片桐(康)ら, 1981)。平坂(1912)は主レンズ細胞は発生の初期には光受容能をもち、網膜完成とともにその機能を失ってレンズになると推定した。本研究においてレンズ細胞から光応答の得られた同じ背眼で網膜の視細胞から光刺激に対する過分極性応答が確認された(Katagiri *et al.*, 1979)。即ち、形態的にも機能的にも完成された背眼において、レンズ細胞が光応答を示したことは明らかである。著者らはレンズ細胞の基部に求心性突起様構造の存在をしばしば観察した。しかし、それらと視神経束の形成との関係、光情報の有無については今後の研究に待たなければならない。

イソアワモチの背眼レンズを構成するレンズ細胞は形態および光応答から“レンズ”と“光受容”の二つの機能を有すると考えられる。レンズ内部の細胞構築は多様であるが、レンズ細胞は集合して1個のレンズを構成していることから、“レンズ”としてはレンズ細胞の集合体全体で、“光受容”としてはレンズ細胞が個々に機能すると推測される。背眼のレンズ細胞のようにレンズと光受容の二つの機能を併せもつ細胞は他の動物には知られていない。

イソアワモチは上述の背眼の他に主要な光受容器

として1対の柄眼をもち、さらに表皮下に夥しい数の dermal photoreceptor をもっている(Katagiri *et al.* 1978, 1979, 片桐 1980)。この動物の光受容系における背眼とレンズ細胞の意義は、既知の動物の眼と単純な比較はできないように思われる。

#### 謝 辞

本研究にあたり、終始一貫した御指導と御助言を下さった東京女子医科大学第二解剖学教室飯沼守夫教授と同大学第一生理学教室渡辺宏助教授に心から感謝の意を表します。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金(片桐展子367011)の援助によって行われた。

1) *Onchidium* sp. はイソアワモチより生息地が広範で、二種は同時に採集される。イソアワモチより小形のものが多く、その hyponotum は淡黄色を呈し、イソアワモチの灰青緑色とは明らかに異なっている。発生過程も異なるのでイソアワモチと別種と考えられるが種名はまだ不明である。

#### 文 献

- EAKIN, R. M. (1968) Evolution of photoreceptors. *Evolutionary Biology*, vol. 2, eds. by I. Dobzhansky *et al.*, Appleton-Century-Crofts, New York, pp 194-242.
- (1972) Structure of invertebrate photoreceptors. *Photochemistry of Vision. Handbook of Sensory Physiology*, vol. 7, ed. by H. J. A. Dartnall, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp 625-684.
- (1982) Continuity and diversity in photoreceptors. *Visual Cells in Evolution*, ed. by J. A. Westfall, Raven Press, New York, pp 91-105.
- 平坂恭介(1912) イソアワモチ背眼の構造について. *動物学雑誌* 24:20-35.
- HIRASAKA, K. (1922) On the structure of the dorsal eye of *Onchidium*, with notes on their formation. *Annot. Zool. Japon* 10: 171-182.
- KARNOVSKY, M. J. (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy.

- J. Cell Biol.* 27: 137A-138A.
- KATAGIRI, N., Y. KATAGIRI AND K. FUJIMOTO (1978) Ultrastructure of the dermal photoreceptor cells in *Onchidium verruculatum* (Mollusca: Gastropoda). *J. Electron Microsc.* 27: 334.
- (1979) Ultrastructure of the ciliary-type photoreceptor cell of the dorsal eye of *Onchidium verruculatum* (Mollusca: Gastropoda). *J. Electron Microsc.* 28: 248.
- (1981) Ultrastructure of the lens of the stalk eye in *Onchidium verruculatum* (Mollusca: Gastropoda). *J. Electron Microsc.* 30: 254.
- 片桐展子 (1980) イソアワモチ背眼の視細胞の微細構造. 解剖誌 55:357.
- ・片桐康雄・藤本克己 (1981) イソアワモチ背眼にみられるレンズ細胞の微細構造. 東女医大誌 51:1148-1160.
- KATAGIRI, Y., N. KATAGIRI AND K. FUJIMOTO (1979) Four kinds of ciliary- and rhabdomeric-type photoreceptor cells in *Onchidium verruculatum*. *J. Physiol. Soc. Jap.* 41: 352.
- 片桐康雄 (1981) イソアワモチ背眼のレンズ細胞の脱分極性光応答に対するナトリウム, カリウムおよびカルシウム・イオンの影響. 東女医大誌 51:1736-1746.
- ・藤本克己・片桐展子 (1981) イソアワモチ背眼のレンズ細胞の光応答. 東女医大誌 51:1161-1167.
- LENDENFELD, R. (1885) Preliminary report on the histological structure of the dorsal papillae of certain species of *Onchidium*. *Proc. Linn. Soc. N. S. Wales* 10: 730-732.
- LUFT, L. H. (1961) Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9: 409-412.
- MILLONIG, G. (1962) Further observations on a phosphate buffer for osmium solutions of fixation. *Proc. 5th Intern. Cong. for Electron Microsc.* Academic Press, New York. 2: 8.
- SALVINI-PLAWEN, L. VON AND E. MAYR (1977) On the evolution of photoreceptors and eyes. *Evolutionary Biology*, vol. 10, eds. by M. K. Hecht et al., Plenum, New York, pp 207-263.
- SEMPER, C. (1877) Über Schneckenaugen vom Wirbelthiertypus nebst Bemerkungen über einige andere histologische Eigentümlichkeiten verschiedener Cephalophoren. *Arch. mikr. Anat.* 14, 118-124.
- SPURR, A. R. (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26: 31-43.
- STANTSCHINSKY, W. (1908) Über den Bau der Rückenaugen und die Histologie der Rückenregion der Oncidien. *Zeit. wiss. Zool.* 90: 137-180.
- 梁瀬 健・阪本佐登美 (1965) イソアワモチ背眼視細胞の微細構造. 動物学雑誌 74:238-242.
- YANASE, T., Y. OKUNO AND H. UCHIDA (1981) Electrophysiological studies on the visual cell and lens cell of dorsal eye in *Onchidium verruculatum*. *Memoirs of the Osaka Kyoiku University, Ser. III* 29: 121-126.